

Є.М. Дитятковська¹,
С.В. Білецька^{1,2}

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ ІЛ-4 ТА ІFN-Г ПІД ВПЛИВОМ КОМБІНОВАНОЇ АЛЕРГЕН-СПЕЦИФІЧНОЇ ІМУНОТЕРАПІЇ У ХВОРИХ НА ПОЛІНОЗ З ПОЄДНАНОЮ СЕНСИБІЛІЗАЦІЄЮ ДО ПИЛКОВИХ ТА ПОБУТОВИХ АЛЕРГЕНІВ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»¹
кафедра професійних хвороб та клінічної імунології
(зав. – д. мед. н., проф. К.Ю. Гашинова)
кафедра сімейної медицини ФПО
(зав. – доц., д. мед. н., І.Л. Височина)
вул. В. Вернадського, 9, Дніпро, 49044, Україна
Медичний центр «Unimed»²
вул. Молодої Польщі, 7, Краків, 30-131, Польща
SE «Dnipropetrovsk medical academy of Health Ministry of Ukraine»¹
Department of Occupational Diseases and Clinical Immunology
Department of Family Medicine FPE
V. Vernadsky str., 9, Dnipro, 49044, Ukraine
Medical Center “Unimed”²
Młodej Polski str., 7, Krakow, 30-131, Poland
e-mail: biletiskasv@gmail.com

Цитування: Медичні перспективи. 2020. Т. 25, № 1. С. 116-121

Cited: Medicni perspektivi. 2020;25(1):116-121

Ключові слова: поліноз, цитокіни, комбінована алерген-специфічна імуноterapia

Ключевые слова: полиноз, цитокины, комбинированная аллерген-специфическая иммуноterapia

Key words: polynosis, cytokines, combined allergen-specific immunotherapy

Реферат. Динамика показателей цитокинового профиля ІЛ-4и ІFN- γ под влиянием комбинированной аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) у больных с полинозом и сочетанной сенсibilizацией к пыльцевым и бытовым аллергенам. Дитятковская Е.М., Белецкая С.В. В статье представлены результаты клинической оценки цитокинового профиля (ІЛ-4, ІFN-γ) при комбинированной аллерген-специфической иммунотерапии АСИТ у больных с полинозом и сочетанной сенсibilizацией к пыльцевым и бытовым аллегенам. Исследования проведены у 49 пациентов 19-57 лет (24 женщины и 25 мужчин), страдающих полинозом от 1 до 38 лет. Больные прошли аллергологическое обследование, включающее сбор анамнеза, диагностические кожные пробы - prick test, иммунологические исследования крови иммуноферментным методом и аллергокомпонентную диагностику ALEX, на основании чего у всех пациентов выявлена поли-сенсibilizация к пыльцевым и бытовым аллегенам. Всем пациентам была проведена предсезонная АСИТ. Основная группа из 31 пациента получала комбинированную АСИТ с растворами пыльцевых и бытовых аллегенов. 18 больных группы сравнения получали АСИТ только пыльцевыми аллергенами. Группы наблюдений были сопоставимы по полу, возрасту и длительности заболевания. Исследования были проведены в период ремиссии болезни до начала АСИТ и через 1 год. Установлено, что под воздействием комбинированной АСИТ у больных наблюдался иммуносpezifический эффект достоверного снижения уровня ІЛ-4 при одновременном повышении на 59,8% продукции интерферона-гамма, что свидетельствует об активации процесса переключения иммунного ответа с Th-2 на Th-1 клетки. Позитивность результатов клинических и иммунологических исследований убедительно доказывает преимущества и эффективность применения АСИТ у больных с полинозом и сочетанной сенсibilizацией к пыльцевым и бытовым аллергенам.

Abstract. Dynamics of ІL-4 and ІFN-γ cytokine profile under the influence of combined allergen-specific immunotherapy (ASIT) in patients with polynosis and combined sensitization to pollen and household allergens. Dytyatkovska E.M., Biletska S.V. The article presents the results of the clinical evaluation of the cytokine profile (ІL-4, ІFN-γ) in combined allergen-specific ASIT immunotherapy in patients with polynosis and combined sensitization to pollen and household allergens. Studies were conducted in 49 patients aged 19-57 years (24 women and 25 men) suffering from polynosis from 1 to 38 years. Patients underwent an allergological examination, including history taking, diagnostic skin tests - prick test, immunological studies of blood by enzyme-linked immunosorbent assay and allergic component diagnosis ALEX, on the basis of which polysensitization to pollen and household allergens was revealed in all patients. All patients underwent pre-season ASIT. The main group of 31 patients received a combined

ASIT with solutions of pollen and household allergens. 18 patients of the comparison group received ASIT only with pollen allergens. The observation groups were comparable by sex, age, and disease duration. Studies were conducted during the period of remission of the disease before the onset of ASIT and 1 year after. It was found that under the influence of combined ASIT, an immunospecific effect was observed in patients with a significant decrease in the level of IL-4 in simultaneous increase in the production of interferon-gamma by 59.8%, which indicates the activation of the process of switching the immune response from Th-2 to Th-1 cells. The positive results of clinical and immunological studies convincingly prove the advantages and effectiveness of the use of ASIT in patients with polynosis and combined sensitization to pollen and household allergens.

На цей час алергічні захворювання сформували гостру для клінічної медицини проблему, яка має глобальне розповсюдження та соціальний характер [3, 4, 6]. Так, тільки від алергічного риніту у світі страждає 4-10% населення, у країнах Європи – 3,2-19,6% [3, 4, 8]. Для умов України, особливо промислово забруднених міст, ця ситуація ще складніша. Стан техногенного забруднення життєзабезпечуючих середовищ довкілля (атмосферне повітря) впливає на агресивність пилоквих алергенів, що сприяє значному зростанню захворюваності на поліноз серед населення міст. За даними аналізу, який проводився Дитятковською Є.М. (10 тис. анкетопитування мешканців міста), кількість хворих на поліноз у 6,6 раза більша, ніж за даними офіційної статистики, яка базується на зверненнях пацієнтів [4, 9]. Техногенне забруднення атмосферного повітря потенціє агресивність пилоквих алергенів, що сприяє значному зростанню розповсюдженості полінозу серед населення.

Серед методів лікування полінозу провідне місце належить алерген-специфічній імунотерапії причинно-значущими алергенами (АСІТ), перевагою якої є безпосередня дія на патогенез захворювання, в якому дуже важлива роль відводиться різноманітним цитокинам [11]. Відповідно до сучасних уявлень, продукція IgE або IgG при імунній відповіді визначається Т-лімфоцитами хелперами, які в результаті розпізнавання антигену можуть диференціюватися з Th0 в Th-клітини 1 типу, одним з маркерів активності якого є цитокини IL-12, IFN- γ або Th-клітини 2 типу, одним з маркерів активності якого є цитокини IL-5 і IL-4. Дія АСІТ природно спрямована на імунологічну фазу і призводить до зміни імунної відповіді з Th-2 типу на Th-1 тип зі зміною профілю відповідних цитокинів: збільшується продукція IFN- γ і пригнічується виділення IL-5 і IL-4, IL-13 [2, 5, 10].

Незважаючи на всі успіхи медичної науки, на сьогодні залишається багато питань щодо діагностики та лікування полінозу в Україні та особливо в індустріальних містах, що підкреслює актуальність проблеми та вимагає пошуку нових способів підвищення ефективності АСІТ [6, 8].

У зв'язку з вищевикладеним, метою цього дослідження була оцінка динаміки показників цитокінового профілю (IL-4, IFN- γ) під впливом комбінованої алерген-специфічної імунотерапії (АСІТ) у хворих на поліноз з поєднаною сенсibiliзацією до пилоквих та побутових алергенів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Під спостереженням перебували 49 пацієнтів, віком від 19 до 57 років (у середньому 35,5 \pm 1,5 року), серед яких 24 (49,0%) жінки і 25 (51,0%) чоловіків. Усі пацієнти страждали на поліноз, який клінічно проявлявся сезонним риноркон'юнктивальним синдромом і цілорічним алергічним ринітом, який був з менш маніфестованою клінічною симптоматикою, і проходили лікування на базі консультативно-діагностичного центру та алергологічного відділення Комунального некомерційного підприємства «Клінічна лікарня швидкої медичної допомоги» Дніпровської міської ради, м. Дніпро. Тривалість захворювання коливалась від 1 до 38 років (у середньому 9,2 \pm 1,1 року).

Усім хворим було проведено алергологічне обстеження, яке включало збір анамнезу, діагностичні шкірні проби – prick test з пилоквими (полин, амброзія, лобода, кукурудза, циклахена, соняшник, весняно-літні трави) та побутовими (домашній пил, кліщі) алергенами виробництва Вінницького МП «Імунолог» (Україна) і/або методи алергокомпонентної діагностики ALEX. За результатами тестів у всіх хворих виявлено полісенсibiliзацію до пилоквих та побутових алергенів.

Усім досліджуваним пацієнтам була проведена передсезонна АСІТ етіологічно-значущими алергенами відповідно до експрес-схеми за допомогою водно-сольових розчинів алергенів (у 1 мл розчину – 10000 PNU алергену), виробництва Вінницького МП «Імунолог» (Україна) протягом 1 курсу. При цьому основну групу дослідження склав 31 пацієнт, які отримували комбіновану АСІТ з розчинами пилоквих та побутових алергенів. Групу порівняння склали 18 пацієнтів, які отримували АСІТ тільки пилоквими алергенами, хоча й мали сенсibiliзацію до побутових алергенів.

Обидві групи були зіставлені за статтю, віком і тривалістю перебігу захворювання ($p > 0,05$) (табл. 1).

Діагностика рівня IL-4 та IFN- γ проводилась у сироватці крові імуноферментним методом (кіль-

кісний аналіз) у лабораторії VIK-MEDIK (ліцензія МОЗ України АГ № 602777 від 04.08.2011 року). Дослідження проводилось у період ремісії полінозу до початку АСІТ і через рік після його проведення.

Таблиця 1

Загальна характеристика обстежених хворих

Група	Стать (абс. / %)		Вік, роки (M \pm m)	Тривалість захворювання, роки (M \pm m)
	жіноча	чоловіча		
Основна (n=31)	14/45,2	17/54,8	35,3 \pm 2,0	10,3 \pm 1,5
Порівняння (n=18)	10/ 5,6	8/44,4	36,0 \pm 2,3	7,2 \pm 1,1
Різниця між групами (p)	0,483*		0,813	0,107

Примітка. * – рівень значущості (p) розраховано за критерієм χ^2 , в інших випадках – за t-критерієм Стьюдента.

Для статистичного аналізу даних використовувалась ліцензійна програма STATISTICA v.6.1 (Statsoft Inc., США), серійний номер AGAR909E415822FA. З урахуванням відхилень розподілу кількісних показників від нормального закону за критерієм Шапіро-Уїлка лише в окремих групах або на окремих етапах дослідження використовували як параметричні, так і непараметричні характеристики й методи порівняння: середню арифметичну (M), стандартну похибку (m), медіану (Me), 95% довірчий інтервал для середньої (95% ДІ), критерії Стьюдента для зв'язаних (T) і незв'язаних вибірок (t), Манна-Уїтні (U) і Вілкоксона (W) [1, 4]. Порівняння відносних показників проводилось за критерієм Хі-квадрат Пірсона (χ^2) і точним критерієм Фішера (TFT) [1, 4].

Критичний рівень статистичної значущості (p) при перевірці усіх гіпотез приймався $\leq 0,05$, при $p < 0,10$ визначали тенденцію.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз вихідних рівнів IL-4 у крові хворих на поліноз (до проведення АСІТ) показав їх збільшення порівняно з нормою (0 - 4 пг/мл) у більшості хворих (69,4%), у тому числі у 19 (61,3%) пацієнтів основної групи і 15 (83,3%) пацієнтів групи порівняння ($p = 0,107$ за критерієм χ^2). Концентрація IFN- γ у крові 15 (30,6%) хворих, навпаки, була зниженою відносно норми (2 – 15 пг/мл), у тому числі у 8 (25,8%) і 7 (38,9%) пацієнтів із досліджуваних груп відповідно ($p = 0,338$ за χ^2). При цьому обидві групи були

статистично зіставними ($p > 0,05$) за середніми рівнями показників до початку лікування: концентрація IL-4 у крові становила 4,50 \pm 0,36 пг/мл в основній групі і 5,08 \pm 0,38 пг/мл у групі порівняння ($p = 0,296$ за t-критерієм Стьюдента); середній вміст IFN- γ – 4,13 \pm 0,51 пг/мл і 4,42 \pm 0,92 пг/мл, відповідно по групах ($p = 0,759$ за t-критерієм).

Результати дослідження імунного статусу у хворих на поліноз під впливом АСІТ продемонстрували характерні зміни показників цитокінового профілю в обох групах, а саме: зниження продукції IL-4 і підвищення синтезу IFN- γ (табл. 2, 3). При цьому найбільш виражені зміни відзначені в пацієнтів основної групи, де на тлі комбінованої АСІТ відбувалось вірогідне ($p < 0,05$) зниження рівня IL-4 з 4,50 \pm 0,36 пг/мл до 3,41 \pm 0,24 пг/мл, тобто на 24,2%. Як показав аналіз індивідуальних даних, така динаміка була характерною для більшості обстежених хворих (58,1%). Найбільш виражений позитивний ефект АСІТ відзначено за динамікою вмісту IFN- γ – його концентрація в крові збільшилась у 77,4% (n=24) хворих, відповідала межах референтного інтервалу в 100% пацієнтів, а середній рівень у групі після лікування підвищився на 59,8% – з 4,13 \pm 0,51 пг/мл до 6,60 \pm 0,60 пг/мл ($p < 0,001$ за T і W критеріями).

Отже, отримані дані дозволяють припустити розвиток процесу переключення імунної відповіді з Th-2 на Th-1 клітини на тлі комбінованої АСІТ пилковими та побутовими алергенами.



Таблиця 2

**Динаміка цитокінів у пацієнтів основної групи
під впливом комбінованої АСІТ (n=31)**

Показник	До лікування		Після лікування		p ₁ / p ₂
	відхилення від норми, абс./%	M±m (Me)	відхилення від норми, абс./%	M±m (Me)	
IL-4, пг/мл, N (0-4)	19/ 61,3	4,50±0,36 (4,40)	13/ 41,9	3,41±0,24 (3,20)	0,012/ 0,034
INF-γ, пг/мл N (2-15)	8/ 25,8	4,13±0,51 (3,54)	–	6,60±0,60 (6,71)	<0,001/ <0,001

Примітки: N – референтний інтервал; p₁/ p₂ – рівень значущості різниці середніх показників у динаміці за критерієм Стьюдента (Т)/ Вілкоксона (W).

Позитивні зміни досліджуваних показників цитокінового профілю після проведення АСІТ відзначались і в пацієнтів групи порівняння, але були менш вираженими (табл. 3). Так, незважаючи на зниження продукції IL-4 у крові в 11 (61,1%) пацієнтів, вони залишались вищими за показники норми, а зміни середнього показника в групі на 16,5% (з 5,08±0,38 пг/мл до 4,24±0,32 пг/мл) не досягли рівня статистичної значущості

і мали характер тенденції (p<0,10). Отже, при статистично зіставних середніх рівнях IL-4 у сироватці крові в обох групах на початку дослідження (p>0,05), після проведення комбінованої АСІТ рівень IL-4 у пацієнтів основної групи був на 19,6% нижчим, ніж у пацієнтів групи порівняння – 3,41±0,24 пг/мл проти 4,24±0,32 пг/мл (p=0,043 за t-критерієм; p=0,050 за U-критерієм) (рис.).

Таблиця 3

**Динаміка цитокінів у пацієнтів групи порівняння
під впливом АСІТ пилковими алергенами (n=18)**

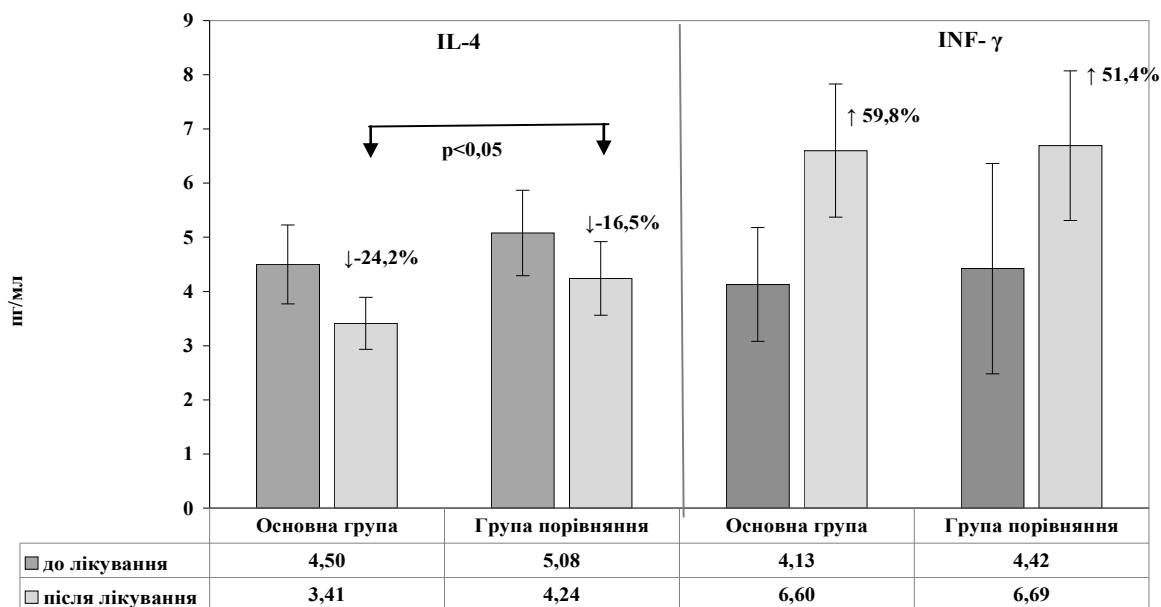
Показник	До лікування		Після лікування		p ₁ / p ₂
	відхилення від норми, абс./%	M±m (Me)	відхилення від норми, абс./%	M±m (Me)	
IL-4, пг/мл, N (0-4)	15/ 83,3	5,08±0,38 (4,73)	11/ 61,1	4,24±0,32 (4,25)	0,061/ 0,071
INF-γ, пг/мл N (2-15)	7/ 38,9	4,42±0,92 (3,84)	–	6,69±0,66 (6,20)	0,003/ 0,006

Примітка. p₁/ p₂ – рівень значущості різниці середніх показників у динаміці за критерієм Стьюдента (Т)/ Вілкоксона (W).

Динаміка продукції INF-γ у хворих на поліноз з поєднаною сенсibiliзацією до пилоквих та побутових алергенів на тлі АСІТ тільки пилоквихими алергенами була подібною до основної групи (табл. 3). Рівень INF-γ підвищився у 83,3% пацієнтів і не виходив за межі референтного інтервалу в 100% хворих. При цьому середній рівень показника збільшився на 51,4% – з 4,42±0,92 пг/мл до 6,69±0,66 пг/мл (p<0,01), і був

статистично зіставним з аналогічним показником у пацієнтів основної групи (p=0,920 і p=0,901 за t- і U-критерієм) (рис.).

Таким чином, результати дослідження показали, що проведення курсу передсезонної комбінованої АСІТ у хворих на поліноз з поєднаною сенсibiliзацією до пилоквих та побутових алергенів підвищує активність Th-клітин 1 типу, достовірно знижуючи продукцію Th-2 клітин.



Динаміка середніх рівнів (М, 95% ДІ) цитокінів під впливом АСІТ у групах дослідження: вказано зміни показника порівняно з вихідним рівнем до лікування

ВИСНОВКИ

1. Під впливом алерген-специфічної комбінованої імунотерапії спостерігається імуноспецифічний ефект достовірного зниження рівня ІЛ-4 з $4,50 \pm 0,36$ пг/мл до $3,41 \pm 0,24$ пг/мл ($p < 0,05$) при одночасному зростанні на 59,8% продукції інтерферону-гамма ($p < 0,001$), що свідчить про активацію процесу переключення імунної відповіді з Th-2 на Th-1 клітини.

2. Застосування алерген-специфічної комбінованої імунотерапії у пацієнтів на поліноз з поєднаною сенсibiliзацією до пилоквих та побу-

тових алергенів зумовлює більш суттєвий вплив на активність Th2-клітин, що виявлялось зниженням на 19,6% продукції ІЛ-4 порівняно з пацієнтами, які отримували АСІТ тільки пилковими алергенами ($p < 0,05$).

3. Позитивність результатів імунологічних досліджень переконливо доводить переваги та ефективність застосування алерген-специфічної комбінованої імунотерапії при лікуванні хворих на поліноз з поєднаною сенсibiliзацією до пилоквих та побутових алергенів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев: Медінформ, 2018. 579 с.
2. Дитятковська Є. М. Динаміка цитокінів у хворих на поліноз під впливом різних курсів АСІТ. *Імунологія та алергологія, наука і практика*. 2011. № 2. С. 61-66.
3. Дитятковська Є. М. Епідеміологічні закономірності полінозу у м. Дніпропетровську. *Ринологія*. 2012. № 1. С. 13-19.
4. Дитятковська Є. М. Ефективність різних методів та різної кількості курсів АСІТ у хворих на

1. Антомонов М. Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев: Медінформ, 2018. 579 с.
2. Дитятковська Є. М. Темпи і характер динаміки рівня цитокінів під впливом АСІТ у хворих на поліноз. *Медичні перспективи*. 2011. Т. 15, № 2. С. 54-59.
3. Dytatkovska E., Gashynova K., Panov V. Patterns of molecular sensitization in adults in Dnipro region (Ukraine). *Allergy*. 2019. No. 74. P. 831-832. DOI: <https://doi.org/10.1111/all.13998> ISSN 1398-9995
4. Efficacy and safety of D. pteronyssinus immunotherapy in local allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled clinical trial / C. Rondón et al. *Allergy*.

2016. 23 March. Vol. 71, No. 7. P. 1057-1061. DOI: <https://doi.org/10.1111/all.12889>

8. Jutel M., Agache I., Bonini S. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015. Vol. 136. P. 556-568.

9. Milena Sokolowska, Tadech Boonpiyathad, Maria M. Escribese, Domingo Barber. Allergen-specific immunotherapy: Power of adjuvants and novel predictive biomarkers. *Allergy.* 2019. Vol. 74, No. 11, P. 2061-2063. DOI: <https://doi.org/10.1111/all.13973>

10. Roberts G., Pfaar O., Akdis C. A. EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy.* 2018. No. 73. P. 765-98.

DOI: <https://doi.org/10.1111/all.13317>

11. Ullrich D., Ullrich K., Mussler S., Thum-Oltmer S. Vaccination during concurrent subcutaneous immunotherapy: safety of simultaneous application. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2015. No. 47. P. 10-14. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25599553>

REFERENCES

1. Antomonov MYu. [Mathematical processing and analysis of biomedical data]. *Medinform.* 2018;579. Russian.

2. Dityatkovska EM. [The dynamics of cytokines in cases of illness on polynoz pid in a rush of riznyh courses ASIT]. *Immunology and allergology, science and practice.* 2011;2:61-66. Ukrainian.

3. Dityatkovska EM. [Epidemiological patterns of pollinosis in Dnepropetrovsk]. *Rhinology.* 2012;1:13-19. Ukrainian.

4. Dityatkovska EM. [Efficiency of different methods and other courses of ASIT in patients with polynosis]. *Medicni perspektivi.* 2012;17(3):22-30. Ukrainian.

5. Dityatkovska EM. [The temperament and the nature of the dynamics of the cytokine rivnya pid vlivno ACIT in ill with polynoz]. *Medicni perspektivi.* 2011;15(2):54-59. Ukrainian.

6. Dityatkovska E, Gashynova K, Panov V. Patterns of molecular sensitization in adults in Dnipro region (Ukraine). *Allergy.* 2019;74:831-2. <https://doi.org/10.1111/all.13998> ISSN 1398-9995

7. Rondón C, Campo P, Salas M, Aranda A, Molina A, González M, Galindo L, Mayorga C, Torres MJ,

Blanca M. Efficacy and safety of D. pteronyssinus immunotherapy in local allergic rhinitis: a double-blind placebo-controlled clinical trial. 2016. 23 March;71(7):1057-61. doi: <https://doi.org/10.1111/all.12889>

8. Jutel M, Agache I, Bonini S, et al. International consensus on allergy immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136:556-68.

doi: <https://doi.org/10.1111/all.13973>

9. Milena Sokolowska, Tadech Boonpiyathad, Maria M. Escribese, Domingo Barber. Allergen-specific immunotherapy: Power of adjuvants and novel predictive biomarkers. *Allergy.* 2019;74(11):2061-3 doi: <https://doi.org/10.1111/all.13973>

10. Roberts G, Pfaar O, Akdis CA, et al. EAACI Guidelines on Allergen Immunotherapy: allergic rhinoconjunctivitis. *Allergy.* 2018;73:765-98. doi: <https://doi.org/10.1111/all.13317>

11. Ullrich D, Ullrich K, Mussler S, Thum-Oltmer S. Vaccination during concurrent subcutaneous immunotherapy: safety of simultaneous application. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2015;47:10-4. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25599553>

Стаття надійшла до редакції
05.11.2019

